

# 転写因子Nrf2は増殖細胞においてペントースリン酸経路とグルタミン代謝を制御して細胞増殖を促進する

著者	光石 陽一郎
号	81
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	医博第3037号
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10097/62206">http://hdl.handle.net/10097/62206</a>

氏 名	みつし しょういちろう 光石 陽一郎
学 位 の 種 類	博士 (医学)
学位授与年月日	平成 24 年 3 月 27 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項
研 究 科 専 攻	東北大学大学院医学系研究科 (博士課程) 医科学専攻
学位論文題目	転写因子 Nrf2 は増殖細胞においてペントースリン酸経路とグルタミン代謝を制御して細胞増殖を促進する
論文審査委員	主査 教授 張替 秀郎      教授 山本 雅之 教授 佐藤 靖史      教授 石岡千加史

## 論文内容要旨

がん細胞を含む増殖細胞と分化した静止期にある細胞では代謝の様式が大きく異なることが知られている。増殖細胞はグルコースとグルタミンを大量に消費して同化反応を活性化している。多くのがん遺伝子とがん抑制遺伝子は、グルコースやグルタミンの取り込みとその代謝経路に作用することで細胞増殖を制御している。ペントースリン酸経路(Pentose Phosphate Pathway: PPP)は、核酸の新規合成におけるリボース 5 リン酸の供給と NADPH 産生に重要な代謝経路であるが、その直接の制御因子はこれまで知られていない。

転写因子 Nrf2 は酸化ストレス応答の鍵因子として生体防御の中心的役割を果たしている。近年、様々なヒトのがん症例でジェネティックまたはエピジェネティックな原因で NRF2 が恒常的に安定化していることが報告され、非小細胞肺癌ではそれが予後不良因子であることが明らかになっている。悪性化する理由として、化学療法や放射線治療への耐性が增強することや増殖能が亢進することが報告されているが、Nrf2 が細胞増殖をどのように促進させるかの分子機序に関しては十分に解明されていない。

NRF2 が恒常的に安定化している 4 種類の細胞株を用いて siRNA 法で *NRF2* をノックダウンすると増殖抑制が観察され、NRF2 が細胞増殖を促進していることが示唆される。そこで、Nrf2 の直接の標的遺伝子を同定する目的で、マイクロアレイ解析と全ゲノムクロマチン免疫沈降シーケンス解析を施行した。その結果、Nrf2 が PPP の主要酵素であるグルコース-6-リン酸デヒドロゲナーゼ (glucose-6-phosphate dehydrogenase (*G6PD*))、ホスホグルコネートデヒドロゲナーゼ (phosphogluconate dehydrogenase (*PGD*))、トランスケトラーゼ(transketolase (*TKT*))そしてトランスアルドラーゼ(transaldolase (*TALDO1*))を直接制御していることを見いだした。さらに、メタボローム解析により Nrf2 がグルタミン酸システインリガーゼ(glutamate-cysteine ligase(*GCL*))とリンゴ酸酵素(malic enzyme 1 (*ME1*))を制御してグルタミンの代謝(グルタチオン合成と glutaminolysis)を促進することも見いだした。*G6PD* と *TKT* を同時にノックダウンすることにより個体モデルでの腫瘍増大を遅延させたので、Nrf2 による細胞増殖促進には PPP 機能が必要であるといえる。さらに、肝臓と消化管の遺伝子発現プロファイルの比較より、正常細胞でも PI3K-Akt 経路の活性化している増殖組織(消化管上皮)では Nrf2 が代謝関連遺伝子を活性化することができるが、PI3K-Akt 経路の活性化していない静止期にある組織(肝臓)ではこれらを効率的に活性化することができないことを示した。そしてその静止期にある肝細胞で強制的に増殖シグナル(PI3K)を活性化させると Nrf2 が代謝関連遺伝子を効率的に活性化できることがわかった。PI3K-Akt 経路の活性化した状態では NRF2 の核蓄積量が増加するのと同時にリン酸化 Akt 量も増加していることが観察され、PI3K-Akt 経路は Nrf2 を、Nrf2 は PI3K-Akt 経路をそれぞれ増強し合っていることが示唆さ

れた。

本研究は、Nrf2 が細胞増殖において重要な PPP の直接の制御因子であることを明らかにした。増殖シグナルが活性化した状態で、Nrf2 は従来のストレス応答機能を増強させるだけでなく、その機能を拡張し細胞増殖に有利な代謝様式の確立に貢献しているものと考えられる。さらに Keap1-Nrf2 系と PI3K-Akt 経路の相乗的な関係はがんの悪性化をもたらす重要な機序の1つと考えられ、PI3K-Akt 経路と同様に Keap1-Nrf2 系もがん治療において有望な標的と考える。

## 審査結果の要旨

博士論文題目 転写因子 Nrf2 は増殖細胞においてペントースリン酸経路とグルタミン代謝を制御して細胞増殖を促進する

所属専攻・分野名 医科学 専攻・呼吸器病態学 分野

学籍番号 氏名 光石 陽一郎

本研究の背景として、酸化ストレス応答の鍵因子として生体防御の中心的役割を果たしている転写因子 **Nrf2** は、ジェネティックまたはエピジェネティックな原因で **NRF2** が恒常的に安定化していることが、様々なヒトのがん症例で近年報告され、なおかつ非小細胞肺癌ではそれが予後不良因子となっていることがある。がん細胞を含む増殖細胞の代謝の様式は、分化して静止期にある細胞と大きく異なり、グルコースとグルタミンを大量に消費して同化反応を活性化していることが知られている。多くのがん遺伝子とがん抑制遺伝子は、グルコースやグルタミンの取り込みとその代謝経路に作用することで細胞増殖を制御している。ペントースリン酸経路(**Pentose Phosphate Pathway: PPP**)は、核酸の新規合成におけるリボース 5 リン酸の供給と **NADPH** 産生に重要な代謝経路であるが、その直接の制御因子はこれまで知られていない。これまでに **Nrf2** の細胞増殖機序における役割に関しては十分に解明されていないことに着目して本研究はなされた。

得られた結果としては、第一に、NRF2 が恒常的に安定化している 4 種類の細胞株を用いて siRNA 法で NRF2 をノックダウンすると増殖抑制が観察され、NRF2 が細胞増殖を促進していることが示唆されことから、マイクロアレイ解析と全ゲノムクロマチン免疫沈降シーケンス解析を施行して Nrf2 の直接の標的遺伝子を同定することを試みた。その結果、Nrf2 が PPP の主要酵素であるグルコース・6-リン酸デヒドロゲナーゼ (glucose-6-phosphate dehydrogenase (*G6PD*))、ホスホグルコネートデヒドロゲナーゼ(phosphogluconate dehydrogenase (*PGD*))、トランスケトラーゼ(transketolase (*TKT*))そしてトランスアルドラーゼ(transaldolase (*TALDO1*))を直接制御していることを見いだした。

第二に、メタボローム解析により Nrf2 がグルタミン酸システインリガーゼ (glutamate-cysteine ligase (*GCL*)) とリンゴ酸酵素 (malic enzyme 1 (*ME1*)) を制御してグルタミンの代謝 (グルタチオン合成と glutaminolysis) を促進することも見いだした。*G6PD* と *TKT* を同時にノックダウンすることにより個体モデルでの腫瘍増大を遅延させたので、Nrf2 による細胞増殖促進には PPP 機能が必要であるといえる。

第三に、肝臓と消化管の遺伝子発現プロファイルの比較より、正常細胞でも PI3K-Akt 経路の活性化している増殖組織(消化管上皮)では Nrf2 が代謝関連遺伝子を活性化することができるが、PI3K-Akt 経路の活性化していない静止期にある組織(肝臓)ではこれらを効率的に活性化することができないことを示した。

最後に、その静止状態にある肝細胞で強制的に増殖シグナル(PI3K)を活性化させると Nrf2 が代謝関連遺伝子を効率的に活性化することを示した。PI3K-Akt 経路の活性化した状態では NRF2 の核蓄積量が増加するとともにリン酸化 Akt 量も増加していることが観察され、PI3K-Akt 経路は Nrf2 を、Nrf2 は PI3K-Akt 経路をそれぞれ増強し合っていることが示唆された。

本研究は、Nrf2 が細胞増殖において重要な PPP の直接の制御因子であることを初めて明らかにした。増殖シグナルが活性化した状態で、Nrf2 は従来のストレス応答機能を増強させるだけでなく、その機能を拡張し細胞増殖に有利な代謝様式の確立に貢献し、さらに Keap1-Nrf2 系と PI3K-Akt 経路の相乗的な関係はがんの悪性化をもたらす重要な機序の 1 つと考えられ、PI3K-Akt 経路と同様に Keap1-Nrf2 系もがん治療において有望な標的であることを示した。

よって、本論文は博士（医学）の学位論文として十分に値し、合格と認める。